



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

Proyecto de Innovación
Convocatoria 2019/2020
Nº de proyecto: 231

Título del proyecto:

**DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE APRENDIZAJE ACTIVO
EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA BBM1**

Nombre del responsable del proyecto:
ANA SABORIDO MODIA

Facultad de Ciencias Químicas
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

1. Objetivos propuestos en la presentación del proyecto

Las clases prácticas de laboratorio son un componente esencial dentro de la formación universitaria en las áreas de Ciencias. El laboratorio es un entorno complejo, en el que los requerimientos para estudiantes y profesores son elevados, y donde los estudiantes no solo tienen que asistir a clase y realizar las actividades formativas previstas, sino que deben lograr las habilidades, aptitudes y competencias necesarias para desenvolverse en un laboratorio científico. Hay que conseguir que el alumno adquiera habilidades prácticas (“lo que se hace”), sin olvidar los conceptos subyacentes, los objetivos planteados y las estrategias diseñadas para alcanzar los resultados (“por qué, para qué y cómo se hace”). Todo ello supone fomentar el aprendizaje activo, logrando que no solo las manos, sino la cabeza del estudiante estén enfocadas en su experimento. En consecuencia, el propósito final de este proyecto ha sido **involucrar a los estudiantes en el proceso de aprendizaje activo en el laboratorio**, mediante el desarrollo de tres aspectos concretos: (i) actividades pre-laboratorio; (ii) herramientas de autoevaluación; (iii) actividades formativas complementarias.

Este proyecto se ha realizado en la asignatura “Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular I” (BBM1), impartida en el segundo curso del Grado en Bioquímica y del Doble Grado en Química y Bioquímica. La asignatura ha sido cursada por 55 alumnos en el curso 2019-2020. Se trata de un laboratorio integrado, cuyo desarrollo se prolonga durante 3 meses, suponiendo unas 100 horas de trabajo presencial, con sesiones de prácticas de 4 horas, donde los alumnos trabajan en equipos de 2 o 3 personas. Esta organización permite al profesorado un contacto intenso y continuado con el estudiante y supone un buen escenario para la introducción y el desarrollo de nuevas estrategias que favorezcan el aprendizaje.

Los objetivos específicos propuestos en la presentación del proyecto fueron:

- Con respecto a los **ALUMNOS**
 - Implicar al alumnado en el diseño, elaboración, puesta a punto y utilización de las actividades propuestas, así como en el propio proyecto de innovación.
 - Promover el APRENDIZAJE ACTIVO durante el desarrollo de la asignatura, mediante las actividades pre-laboratorio y de auto-evaluación y retroalimentación.
 - Dotar a los alumnos de herramientas de APRENDIZAJE AUTÓNOMO a través de las actividades pre-laboratorio, ejercicios de auto-evaluación, vídeos docentes y cuestiones tipo test on-line.
 - Fomentar el trabajo EN EQUIPO en la elaboración de las actividades propuestas, del póster, el vídeo, etc.
 - Fomentar las HABILIDADES DE COMUNICACIÓN ORAL Y ESCRITA, se motivará al alumno para presentar sus resultados en diferentes formatos de un modo científico, creativo, visual y resolutivo.

- Aumentar su **COMPETENCIA LINGÜÍSTICA** en inglés científico. Para ello se les proporcionará diferente material en inglés y tendrán que redactar parte de sus resultados en este idioma.
- Promover el **ESPÍRITU CRÍTICO** del alumno mediante la reflexión sobre su propio trabajo y el de sus compañeros al tener que valorar los productos elaborados por los demás equipos.

- Con respecto a los **DOCENTES**

- Dotar al profesorado de **HERRAMIENTAS DOCENTES** adicionales con las que reforzar su labor docente y poder motivar al alumno en el aprendizaje activo de los contenidos.
- Dar los cauces necesarios para la progresiva implantación del **INGLÉS** en la asignatura.

- Con respecto a la **ASIGNATURA**

- Potenciar la repercusión de la asignatura **BBM1** en la formación de los alumnos al promover el **APRENDIZAJE ACTIVO**.
- Ampliar los objetivos docentes de la asignatura mediante el empleo de diferentes técnicas de comunicación de resultados científicos (a través del **CONGRESO** en donde los alumnos exponen sus trabajos).
- Profundizar transversalmente en los contenidos de la asignatura: se le dará al alumno la oportunidad de conocer el trabajo de base de un laboratorio de Bioquímica a través de una visita organizada al laboratorio de los técnicos.
- Una mayor integración de la labor del **PAS** con la asignatura al involucrarles en este proyecto.

- Con respecto al **GRADO DE BIOQUÍMICA**

- Reforzar la calidad de la enseñanza del Grado de Bioquímica en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la UCM y mejorar de este modo su adaptación al Espacio Europeo de Educación Superior.

2. Objetivos alcanzados

El desarrollo del presente Proyecto de Innovación ha permitido alcanzar los objetivos concretos previstos en su solicitud.

- Con respecto a los **ALUMNOS**
- IMPLICACIÓN EL PROYECTO DE INNOVACIÓN: Los alumnos matriculados en la asignatura han utilizado el material didáctico creado y han participado voluntariamente en las actividades formativas complementarias, valorando muy positivamente ambas herramientas (Anexo I). Además, cinco alumnos de tercer curso, que realizaron la asignatura el año anterior, han participado, en colaboración directa con los profesores, en el diseño, elaboración y puesta a punto de los test pre-laboratorio, las plantillas para el cuaderno de laboratorio y las correspondientes hojas de autoevaluación.
- APRENDIZAJE ACTIVO Y AUTONOMO: los distintos documentos y herramientas desarrolladas en este proyecto, junto con otras derivadas de proyectos previos, tales como la página web, vídeos docentes, cuestionarios *online*, *etc.*, estaban a disposición de los estudiantes en el Campus Virtual de la asignatura (Anexo II). Estos contenidos han potenciado y facilitado el aprendizaje, según se deriva de los resultados de la encuesta de valoración del Proyecto (Anexo I)
- TRABAJO EN EQUIPO: además del trabajo en las sesiones de laboratorio, parte de las actividades propuestas en este proyecto se han desarrollado en equipos de 2 a 3 alumnos.
- HABILIDADES DE COMUNICACIÓN ORAL Y ESCRITA: más de un 90 % de los alumnos han participado de modo voluntario en el Congreso organizado por los profesores, presentando posters con sus resultados experimentales, y vídeos que dan respuesta a cuestiones breves relacionadas con la asignatura. Todo ello supone para el alumno una introducción en la comunicación científica.
- COMPETENCIA EN INGLÉS CIENTÍFICO: se ha potenciado por varias vías. Por un lado, se ha reforzado la utilización en las clases de vídeos y trabajos científicos en inglés. Por otro lado, los alumnos han tenido que presentar en inglés algunas secciones de los trabajos escritos obligatorios. Además, 14 de los 17 posters presentados fueron redactados totalmente en dicha lengua. La calificación del test de inglés, disponible en el Campus virtual y que se realizan al comienzo y al final de la asignatura, indica una leve mejoría (8,2 a 8,4) en su competencia lingüística tras cursar la asignatura.
- EL ESPÍRITU CRÍTICO del alumno se promovió mediante la reflexión y el análisis de su propio trabajo experimental y al tener que emitir una valoración sobre los productos elaborados por los otros equipos en el Congreso organizado dentro de la asignatura.

- Con respecto a los **DOCENTES y PAS:**

- El presente proyecto ha permitido el diseño y elaboración de nuevas HERRAMIENTAS DOCENTES con las que poder motivar al alumno en el aprendizaje activo de los contenidos.
- Los TÉCNICOS DE LABORATORIO implicados en este Proyecto se han encargado de guiar a los alumnos en las VISITAS AL DEPARTAMENTO de Bioquímica, en las que dan a conocer la importancia de su propio trabajo, muestran las instalaciones del departamento y presentan las principales líneas de investigación desarrolladas en ellas. Estas visitas resultan de gran interés (más de un 90% del alumnado las realizó) y son muy bien valoradas por los estudiantes y los técnicos. Con esta actividad se ha involucrado al PAS en la formación del alumnado y se ha dado relevancia a su trabajo imprescindible para el funcionamiento del laboratorio.
- Se ha conseguido formar un equipo sólido de trabajo con capacidad docente consolidada.

- Con respecto a la **Asignatura y al Grado de Bioquímica:**

- Se dispone de nuevas herramientas docentes con las que poder motivar al alumno en el APRENDIZAJE ACTIVO de los contenidos, tales como los test pre-laboratorio, las plantillas para la elaboración y autoevaluación del cuaderno de laboratorio o las rúbricas de evaluación, herramientas que estarán disponibles para su utilización en los próximos cursos.
- Se ha ampliado los objetivos docentes de la asignatura mediante el empleo de diferentes técnicas de comunicación de resultados científicos y actividades llevadas a cabo durante el proyecto.
- La calidad de la enseñanza en el Grado de Bioquímica se refuerza mediante el empleo de las nuevas herramientas docentes y de las actividades formativas complementarias propuestas.

En resumen, a lo largo de este Proyecto se han desarrollado las siguientes herramientas docentes:

- 10 Test pre-laboratorio con cuestiones de opción múltiple*.
- 10 Plantillas para la elaboración del cuaderno de laboratorio*.
- 10 Hojas de autoevaluación para el cuaderno de laboratorio*.

[Diseñadas específicamente para prácticas de la asignatura Laboratorio BBM1]:*

- 3 Rubricas de evaluación para diferentes partes de la asignatura.
- 17 Posters elaborados por los alumnos sobre sus resultados experimentales. Quedarán expuestos en el laboratorio de alumnos para que sirvan de ayuda e inspiración a otros estudiantes en próximos cursos académicos.
- 21 Vídeos didácticos creados por los alumnos, explicando alguna de las técnicas o procedimientos empleados en el laboratorio. Se podrán utilizar en convocatorias futuras de la asignatura.

Todos estos recursos quedan a disposición del Departamento o de quien quiera utilizarlos.

3. Metodología empleada en el proyecto

El desarrollo del proyecto ha precisado tanto de la implicación de los estudiantes, como de una buena interacción profesor-alumno. La metodología empleada para incentivar el aprendizaje activo en el contexto del Laboratorio BBM1 se puede diferenciar en tres partes: actividades en el laboratorio, actividades enfocadas al aprendizaje autónomo y actividades formativas complementarias.

En cuanto al **trabajo en el laboratorio**, la actividad principal ha consistido en la realización al comienzo de cada sesión práctica de un test de opción múltiple, con resolución instantánea, empleando la aplicación para teléfono móvil *Socrative* (Anexo III). Esta actividad está diseñada para promover en el alumno la preparación previa de las sesiones de laboratorio y permite al profesor evaluar la comprensión de puntos concretos y así estimar si son necesarias explicaciones adicionales.

El **apoyo al aprendizaje autónomo** (fuera del laboratorio) se ha llevado a cabo mediante la elaboración de material didáctico con la finalidad de:

- Facilitar la realización del cuaderno de laboratorio, antes, durante y después de la sesión de laboratorio. Para lo que se crearon esquemas o plantillas específicas para cada una de las sesiones prácticas (Anexo IV).
- Proporcionar al alumno herramientas de autoevaluación, consistentes en hojas de autoevaluación para los experimentos registrados en el cuaderno de laboratorio y rúbricas de evaluación para los informes finales obligatorios en la asignatura.

Además, se han ofrecido al estudiante otros materiales de apoyo al aprendizaje disponibles en el Campus Virtual, tales como contenido multimedia propio de la asignatura, ejercicios prácticos con y sin resolución, test de inglés científico cuestionarios de autoevaluación sobre temas concretos, bibliografía específica, etc. (Anexo II).

Con relación a las **actividades formativas complementarias**, su desarrollo potencia el aprendizaje por vías alternativas a la docencia formal, poniendo en contacto al estudiante con aspectos más profesionales de la Ciencia.

- Visita a las Instalaciones del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, coordinada por los Técnicos de Laboratorio.
- Congreso científico-docente, organizado dentro de la asignatura, donde los estudiantes presentan posters y vídeos, realizados por ellos mismos.

4. Recursos humanos

El éxito de este proyecto ha sido posible gracias a la implicación de las personas que han formado parte del mismo, todas ellas pertenecientes a la Universidad Complutense. El equipo de trabajo está integrado por:

1- Profesores del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular (BBM), con experiencia docente acreditada, en particular en la asignatura objeto de este proyecto, así como en el desarrollo de proyectos de innovación educativa. La profesora Titular Ana Saborido Modia, está adscrita a la Facultad de Ciencias Químicas, mientras que el resto de los profesores están adscritos a la Facultad de Ciencias Biológicas: la Catedrática, Isabel de la Mata Riesco y los profesores Titulares: Miguel Arroyo Sánchez y María José Feito Castellano, así como la contratada post-doctoral Bárbara Olmeda Lozano. Además, han colaborado en diversas actividades del proyecto, aunque no estén incorporados formalmente al mismo, las profesoras Titulares Juana María Navarro Llorens y Mar Lorente Pérez y el profesor Ayudante Doctor Antonio Sánchez Torralba.

2- Personal de Administración y Servicios del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Los Técnicos de Laboratorio del Departamento de BBM, especialistas en Bioquímica, han aportado su experiencia al proyecto a distintos niveles. En concreto, José Luis Garrido y José Luis Nieto se han encargado del desarrollo de la actividad “Visita a las Instalaciones del Departamento BBM”, en la Facultad de Ciencias Químicas, mientras que la visita en la Facultad de Ciencias Biológicas, la han llevado a cabo las técnicas de laboratorio: Teresa López Conejo y Regina Ranz Valdecasa, que no están formalmente incorporadas al proyecto.

La mayoría de los miembros del equipo de trabajo, tanto PDI como PAS, han participado en el Proyecto Innova-Docencia Nº 135 de la convocatoria 2017-2018 (*Conectando el Laboratorio de Bioquímica a la Red*), así como en otros proyectos de Innovación Educativa previos centrados en la asignatura de laboratorio que nos ocupa. Por lo tanto, han estado trabajando con continuidad durante más de seis años con el objetivo de mejorar e innovar en el Laboratorio BBM1.

3- Estudiantes de tercer curso del Grado en Bioquímica, que realizaron la asignatura el curso 2018-2019: Rafael Amigot Sánchez, Elena Blanco Arribas, Mateo Cueto Remacha, Claudia Guerra Espinosa y Patricia Rodríguez Solana. Ellos han aportado la visión del alumno sobre las propuestas del proyecto y han estado directamente involucrados en el diseño, la elaboración y las pruebas previas de algunas de las herramientas docentes.

Además, se ha contado con la participación de todo el **alumnado** matriculado en la asignatura a la que se ha aplicado el proyecto, el Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular I.

5. Desarrollo de las actividades

Las actividades se han desarrollado de acuerdo con el plan de trabajo establecido en la solicitud del proyecto. Se enumeran a continuación las actividades realizadas.

- PREVIAS AL COMIENZO DE LA ASIGNATURA.

Desde la concesión del proyecto se realizaron varias **reuniones de coordinación**, en las que los componentes del equipo se organizaron en tres grupos según la finalidad de la misma. El grupo docente formado por los profesores, se encargó de fijar calendarios, y distribuir la elaboración del material didáctico, y posteriormente revisarlo y probarlo. Los estudiantes de tercer curso, junto con la responsable del proyecto y otros dos profesores, se reunieron para incluir la visión del alumno en las propuestas del proyecto y organizar su colaboración en el diseño y realización de material didáctico. La planificación de la actividad “Visita a las instalaciones del Departamento BBM” se llevó a cabo entre el personal del PAS, la profesora María Navarro y la coordinadora del proyecto.

Durante los meses de junio y julio de 2019, se diseñaron, crearon y revisaron las **herramientas docentes** pensadas para promover el aprendizaje activo en el alumno. Se distribuyeron las prácticas de los bloques I y II del programa de la asignatura entre cinco equipos, formados por un profesor y un estudiante colaborador, que se encargaron de redactar para cada práctica el siguiente material: (i) las preguntas del test pre-laboratorio de opción múltiple; (ii) la plantilla base para el cuaderno de laboratorio; (iii) la hoja de autoevaluación para el registro del experimento en el cuaderno de laboratorio. Posteriormente varios profesores revisaron y homogeneizaron los documentos, antes de incorporarlos al Campus Virtual y los estudiantes probaron los test. Por otro parte, los profesores se encargaron de la elaboración de las rúbricas de evaluación para los dos informes finales obligatorios y para el cuaderno de laboratorio en su conjunto.

- DURANTE EL DESARROLLO DE LA ASIGNATURA (septiembre- diciembre 2019)

Test pre-laboratorio

Al comienzo de cada sesión de laboratorio, empleando la aplicación *Socrative*, se realizó un pequeño test de opción múltiple, sobre los experimentos de la sesión práctica, con 4 o 5 preguntas que se resolvían en el momento. La aplicación es fácil de usar, el test no consume mucho tiempo y no resulta extraño para el estudiante, permite un seguimiento en tiempo real de las respuestas de los alumnos y elabora un informe final detallado de los resultados del test. Un ejemplo de los test planteados y de los informes que se obtienen, se presenta en el Anexo III. Esta actividad contribuye a que el estudiante llegue a la sesión de prácticas habiéndose preparado para lo que tiene que hacer en el

laboratorio y consigue que pueda seguir mejor las explicaciones del profesor. Además, proporciona al profesor información directa y objetiva sobre los aspectos de la práctica que resultan más difíciles de entender y que requieren explicaciones adicionales. En la encuesta de valoración (Anexo I) los estudiantes han asignado a esta actividad un $7,8 \pm 1,4$ sobre 10.

Utilización del material docente elaborado en el proyecto

El material docente creado para el apoyo al aprendizaje autónomo estaba disponible en el Campus Virtual. Dichos documentos fueron repetidamente consultados por todos los estudiantes, como reflejan los registros de acceso de la plataforma Moodle. Cabe destacar que estas herramientas recibieron una muy buena valoración por parte de los alumnos (Anexo I), en particular, las plantillas para el registro de los experimentos en cuaderno de laboratorio, $9,6 \pm 0,6$.

Uso del material docente disponible en el Campus Virtual

Desde el Campus Virtual (Anexo II), también es posible acceder al material docente asociado a anteriores proyectos de innovación, por ejemplo: la página web de la asignatura BBM1 (<http://www.recursosbioquimica.es>) con diversos recursos de interés; una serie de vídeos didácticos realizados por los profesores; varios test para que el alumno evalúe su grado de comprensión de los temas abordados en los vídeos; una prueba de inglés, para valorar su nivel de inglés científico. Además, están disponibles varios contenidos asociados al uso del inglés en la ciencia, en general, y en la asignatura, en particular. La utilización de estos recursos fue voluntaria y según los registros del Campus Virtual, menos de la mitad de los alumnos accedieron a ellos.

Visita a las Instalaciones del Departamento

Esta actividad tuvo una gran aceptación por parte de los alumnos, con un 93% de asistencia voluntaria y una excelente valoración ($9,2 \pm 1,0$, Anexo I). Durante 2 horas, los técnicos de laboratorio explicaron a los estudiantes en grupos de 12-14 personas en qué consiste su trabajo y su importancia para el funcionamiento del laboratorio de prácticas. Además, les mostraron las instalaciones y equipamiento del departamento, y durante la visita pudieron charlar de modo distendido con algunos doctorandos e investigadores del Departamento.

- **AL FINAL DE LA ASIGNATURA**

Realización por los alumnos de posters científicos y vídeos didácticos

Entre las actividades formativas complementarias de la asignatura está la participación en un Congreso de carácter científico-docente, donde los estudiantes presentan sus propias aportaciones realizadas en equipos de 2 a 3 personas. Por un lado, los alumnos diseñaron posters para presentar los resultados experimentales que obtuvieron en un mini-proyecto práctico realizado en la asignatura; los posters se imprimieron en tamaño 2 x A3, se expusieron en la jornada del Congreso y, posteriormente se colocan en los laboratorios de alumnos, como apoyo a las generaciones futuras.

El Anexo V muestra un par de ejemplos de los posters realizados por los estudiantes este curso. Por otro lado, rodaron y editaron vídeos didácticos sobre procedimientos o técnicas desarrolladas en el laboratorio, de 3 a 4 minutos de duración y en formato mp4. Para la realización de ambos tipos de aportaciones, los estudiantes contaron con el asesoramiento de los profesores de la asignatura y la ayuda técnica del Dr. Antonio Sánchez Torralba.

Desarrollo del Congreso científico-docente

Las aportaciones preparadas de modo voluntario por los distintos grupos de estudiantes se presentaron en una jornada que tuvo lugar el día 16 de diciembre de 2019 en el salón de actos de la Facultad de CC Biológicas (UCM). En el Congreso participaron un 70% de los alumnos elaborando un póster y un 90% rodando un vídeo; se presentaron un total de 17 posters, 14 de ellos redactados en inglés, y de 21 vídeos, todos ellos en español. Durante la jornada los alumnos dispusieron de una hoja de evaluación (Anexo VI), para la valoración anónima de los trabajos desarrollados por los restantes grupos; además, en la hoja de evaluación disponían de espacio para hacer comentarios y sugerencias de mejora sobre la asignatura y el proyecto de innovación, lo que hicieron un 40 % de los alumnos. Al final de la jornada, los alumnos votaron el mejor poster y el mejor vídeo; como ya se ha mencionado, la valoración crítica del propio trabajo o del realizado por otros compañeros es un aspecto que puede contribuir notablemente a la formación del estudiante.

Junto con la votación para los posters y los vídeos, se pidió a los alumnos que respondieran a un **cuestionario de evaluación del Proyecto de innovación** y sus herramientas y actividades, a través de la aplicación *Socrative*. Los resultados de dichas valoraciones aparecen resumidos en el Anexo I.

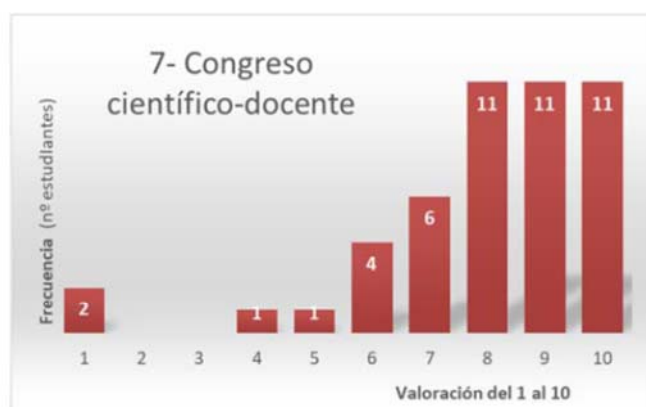
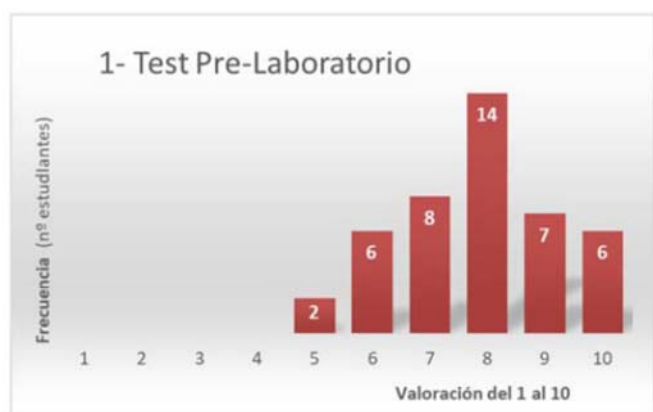
6. Anexos

ANEXO I- Resultados de la valoración realizada por los estudiantes al final de la asignatura sobre las distintas actividades asociadas al Proyecto de Innovación. La encuesta se realizó mediante la aplicación *Socrative*, el día del Congreso.

Tabla resumen

Pregunta (valoración de 1 a 10)	Promedio	Desviación estándar	CV (%)	nº respuestas
TESTS PRE-LABORATORIO	7,8	1,4	17,6	45
PLANTILLAS PARA EL CUADERNO DE LABORATORIO	9,6	0,6	6,0	44
RÚBRICAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA ASIGNATURA	8,2	1,7	20,4	45
VISITA A LAS INSTALACIONES DEL DEPARTAMENTO	9,2	1,0	11,3	45
ELABORACIÓN DE UN PÓSTER CIENTÍFICO	8,5	1,0	12,1	42
ELABORACIÓN DE UN VÍDEO DIDÁCTICO	8,2	1,9	23,6	45
CONGRESO CIENTÍFICO-DOCENTE	8,1	1,7	21,5	45
ACTIVIDADES ADICIONALES DENTRO DEL CONTEXTO DE LA ASIGNATURA	8,5	1,3	15,4	45

Figuras- Los resultados para cada una de las actividades se presentan un gráfico de columnas donde en el eje X se indican las posibilidades de puntuación (entre 1 y 10), y en el eje Y el número de respuestas para cada puntuación. Dentro de cada barra el número corresponde a las respuestas emitidas con esa puntuación.



LABORATORIO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR I, Curso 2019-2020

[Página Principal](#) / [Cursos](#) / [19-109490](#) / [Proyecto Innova-Docencia](#)

Novedades

LA ASIGNATURA

Proyecto Innova-Docencia

Scientific English

RESULTADOS - Turno 1

RESULTADOS -Turno 2

MATERIAL EXTRA

Actividades Complementarias

Para saber más

Utilidades para Profesores

CONGRESO 17 enero 2018

BLOQUE I

BLOQUE II

BLOQUE III

BLOQUE IV

Presentación Proyecto Innova-Docencia 2019

BLOQUE I - Plantillas para el Cuaderno de Laboratorio y de Autoevaluación

BLOQUE II - Plantillas para el Cuaderno de Laboratorio y de Autoevaluación

Rúbricas de Evaluación

AVISOS RECIENTES

8 de ene, 19:07
MARIA JOSE FEITO CASTELLANO
[Encuestas Docencia](#)
[Temas antiguos ...](#)

EVENTOS PRÓXIMOS

No hay eventos próximos
[Ir al calendario...](#)

ACTIVIDAD RECIENTE

PÁGINA WEB BBM1-UCM

PÁGINA WEB BBM-UCM. Ya está disponible la página web de la asignatura fruto del trabajo de varios PIMCDs realizados gracias al profesorado que imparte esta asignatura de BBM1 y los alumnos de grado de Bioquímica. Aquí podéis encontrar Vídeos, pósters, entrevistas.....Si queréis participar en su construcción y mejora, sois siempre bienvenidos. Contactad con Antonio Sánchez o María Navarro del Departamento de BBM. Los mails de contacto aparecen en la pestaña "quienes somos".

*** RECURSOS on-line: Vídeos didácticos**

Vídeo: Preparación de disoluciones [11:19]

Vídeo: Diluciones [18:28]

Vídeo: Tampones y pH. Nociones básicas [6:33]

Vídeo: Preparación de tampones [11:11]

Vídeo: Tablas de pipeteo [5:27]

Vídeo: Cómo realizar un vídeo científico [5:32]

Vídeo: Cómo realizar un póster científico [8:46]

Vídeo: Cómo elaborar un cuaderno de laboratorio [13:29]

Vídeo: Cómo elaborar un artículo científico [25:54]

*** RECURSOS on-line: Tests**

Disoluciones y diluciones

pH y tampones

Tablas de pipeteo

*** Prueba de nivel de INGLÉS**

SCIENTIFIC ENGLISH

Grammar Hammer Scientific Writing

Tips for improving scientific english

Scientific Vocabulary

LABORATORY WORK

Laboratory Manual

Worksheets for Blocks I and II

Cuestiones del Bloque II- En Español

How to use and calibrate a pH-meter

Buffer Preparation

Solutions and Dilutions

How to cite references

*** JORNADA CIENTÍFICA 16 de diciembre de 2019**

Instrucciones Congreso, Guidelines for the Workshop.

Lista de Temas para los Vídeos, List of Videos topics.

Cómo elaborar un póster científico (1). How to make a scientific poster.

Cómo elaborar un póster científico (2). How to make a scientific poster.

Ayuda técnica con los vídeos: Antonio Sánchez Torralba (antons04@ucm.es)

ANEXO III – Informe de resultados de uno de los test pre-laboratorio realizado por los estudiantes con la aplicación Socrative.

TURN02



09/16/2019

1-2 Preparación de disoluciones. Importancia

...

Total de preguntas: 4

La mayoría de las respuestas correctas: #3

Menos respuestas correctas: #1

1. ¿Cuándo se debe medir el pH de una disolución?

- 18/27 ☒ A Una vez disueltos todos los componentes y antes de enrasar el volumen final.
- 4/27 ☐ B Antes de trasvasar la disolución a una botella previamente rotulada.
- 0/27 ☐ C Durante la disolución de los compuestos sólidos.
- 0/27 ☐ D En cualquier momento.
- 5/27 ☐ E Tras enrasar la disolución a volumen final.

2. Una disolución tampón tiene mayor capacidad de tamponamiento cuanto:

- 22/27 ☒ A Mayor es su concentración.
- 0/27 ☐ B Menor es su concentración.
- 0/27 ☐ C Mayor es su pH.
- 0/27 ☐ D Menor es su pH.
- 5/27 ☐ E Es independiente de su concentración y su pH.

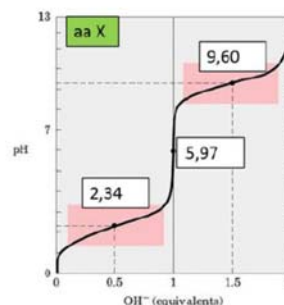
3. Se dispone de los siguientes indicadores de pH y se quiere determinar el punto final de una titulación de tampón citrato cuyo $pK_{a3} = 5,4$. ¿Qué indicador de los anteriores debería usar en dicha titulación?

- 0/27 ☐ A Naranja de metilo.
- 27/27 ☒ B Rojo de metilo.
- 0/27 ☐ C Fenolftaleína.
- 0/27 ☐ D Cualquiera de los anteriores.
- 0/27 ☐ E Ninguno de los anteriores.

Indicador	Color forma ácida	Color forma básica	Intervalo de viraje
Naranja de metilo	Naranja	Amarillo	3,2 - 4,4
Rojo de metilo	Naranja	Amarillo	4,8 - 5,2
Fenolftaleína	Incolora	Rosa tenue	8,2 - 10,0

4. Se ha obtenido la siguiente gráfica de la titulación de un aminoácido X. ¿Qué afirmación de las siguientes es FALSA respecto a la información obtenida de la titulación?:

- 0/27 ☐ A 5.97 se corresponde con el pI.
- 2/27 ☐ B 2.34 y 9.60 son los pK_{a1} y pK_{a2} del aminoácido.
- 4/27 ☐ C Se trata de un aminoácido sin grupo ionizable en la cadena lateral
- 3/27 ☐ D Hacen falta dos equivalentes de base para titularlo.
- 18/27 ☒ E Se trata de un aminoácido básico



BLOQUE 1- El laboratorio de Bioquímica

EXPERIMENTO 1.2. Preparación de disoluciones. Importancia del pH

Fecha:

1. INTRODUCCIÓN

- Explicar en qué consiste una disolución y la importancia de sistemas tampónes.
- Explicar la importancia del pH y cómo se mide.
- Describir cómo se titula un aminoácido.

2. OBJETIVOS EXPERIMENTALES

- Preparar una disolución tampón y comprobar su capacidad de tamponamiento.
- Aprender a usar el pHmetro.
- Titular un aminoácido e identificarlo a partir de sus valores de pKa.

3. PLANIFICACIÓN Y DESARROLLO EXPERIMENTAL

a. Materiales y reactivos:

- KH_2PO_4 (fosfato monopotásico) Tampón fosfato 0,1 M, pH 7,0
- K_2HPO_4 (fosfato dipotásico) HCl 0,2 M y HCl 0,6 M
- NaOH 0,2 M y NaOH 0,6 M Bureta y soporte con pinzas
- Indicador Naranja de metilo Indicador Fenolftaleína
- Ácido clorhídrico (HCl 6 M) Hidróxido potásico (KOH 4 M)
- Disoluciones 0,1 M de diferentes aminoácidos problema

EXPERIMENTO 2.1. Preparación de un a disolución tampón

- Cálculos:** Preparación de 1000 mL de tampón fosfato potásico 0,1 M, pH 7,0, a partir de fosfato monopotásico y fosfato dipotásico sólidos.

c. Procedimiento:



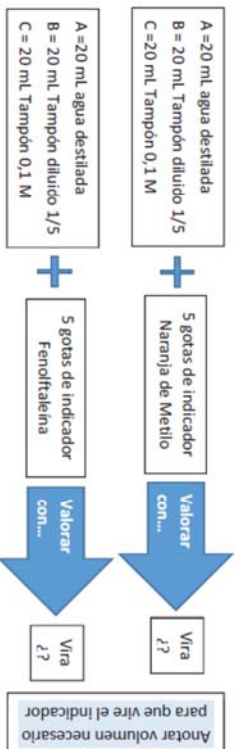
EXPERIMENTO 2.2. Comprobación de la capacidad de tamponamiento

c. Procedimiento:

- Preparar 100 mL de una dilución 1/5 del tampón fosfato potásico 0,1 M, pH 7,0. Calcular la concentración del nuevo tampón y determinar su pH.
- Montar la bureta en el soporte y comprobar que funciona correctamente.

BLOQUE 1- El laboratorio de Bioquímica

iii. Preparar tres vasos de precipitados (A, B, y C)



- Anotar el volumen de la disolución de NaOH (o de HCl) necesario para que vire el indicador en cada caso (A, B y C).

EXPERIMENTO 2.3. Titulación de un aminoácido

c. Procedimiento:



- Si el pH inicial de la disolución del aminoácido problema es superior a 1,5-2, hay que titular también la rama ácida de la curva. En ese caso, preparar otro vaso de precipitado con 30 mL del aminoácido y titular del mismo modo empleando HCl 0,6 M, hasta alcanzar un valor de pH de 1,0-1,5.

d. Incidencias

4. RESULTADOS

- Preparación del tampón: anotar el valor de pH de la disolución tampón preparada y si es necesario añadir ácido o base para ajustar el pH a 7,0
- Comprobación de la capacidad de tamponamiento: anotar los resultados en una tabla.

Tabla 1: Volumen requerido para que vire el indicador

Disolución	INDICADOR usado (mL)	INDICADOR usado (mL)
Agua destilada	Volumen HCl 0,2 M	Volumen NaOH 0,2 M
Tampón diluido		
Tampón 0,1 M (original)		

c. Titulación del aminoácido problema: anotar los resultados en una (o dos) tabla(s).

Tabla 2. Valores de pH de la disolución del aminoácido problema tras la adición de alícuotas de 0,5 mL de NaOH 0,6 M (o HCl 0,6 M).

Volumen NaOH 0,6 M (mL)	pH medido
0,5	
1,0	
1,5	

- d. Construir la curva de titulación del aminoácido problema: se representa pH medido vs. volumen de NaOH o HCl 0,6 M añadido.
- Determinar los equivalentes de base o de ácido añadidos para titular el aminoácido e indicarlos en el eje de abscisas.
 - Explicar cómo se determinan los valores de pK_a 's a partir de una curva de titulación..
 - Establecer cuántos grupos titulables presenta el aminoácido a partir de la curva de titulación y estimar los valores de pK_a de dichos grupos.

5. DISCUSIÓN

- Explicar las diferencias en la capacidad de tamponamiento de las distintas disoluciones empleadas.
- Identificar cuál es el aminoácido problema, basándose en los resultados experimentales y en los valores de pK_a s tabulados en la bibliografía para los aminoácidos.

6. CONCLUSIONES

- De qué depende la capacidad de tamponamiento de las disoluciones.
- ¿Es posible identificar un aminoácido a partir de su curva de titulación?

7. CUESTIONES COMPLEMENTARIAS

AUTOEVALUACIÓN

Experimento 1.2.: Preparación de disoluciones. Importancia del pH.

TAREAS COMPLETADAS	SI	NO
1. Título de la práctica y fecha en la que se ha realizado.		
2. He redactado una breve introducción y he descrito claramente los objetivos de la práctica.		
3. He comprendido qué es y cómo se prepara una disolución tampón.		
4. Sé realizar los cálculos requeridos para preparar un tampón.		
5. He aprendido a calibrar y usar el pHmetro.		
6. He comprendido para qué se utilizan los indicadores de pH.		
7. He entendido qué información se obtiene a partir de la gráfica de titulación de un aminoácido.		
8. He comprendido el esquema del procedimiento a seguir durante las distintas partes de la práctica.		
9. He llevado a cabo las medidas propuestas y he anotado en tablas los resultados obtenidos.		
10. He construido la gráfica de titulación del aminoácido problema, indicando el valor de sus pK_a 's.		
11. He anotado las incidencias ocurridas durante el desarrollo experimental.		
12. He discutido los resultados obtenidos en las distintas partes de la práctica.		
13. He llegado a conclusiones sobre qué es y de qué depende la capacidad de tamponamiento de una disolución.		
14. He identificado el aminoácido problema.		
15. He resuelto todas las cuestiones complementarias.		

ANEXO V- Cuestionario para la valoración de los posters y vídeos presentados en el Congreso, así como para hacer comentarios y propuestas anónimas sobre la asignatura y el proyecto de innovación.

CONGRESO CIENTÍFICO-DOCENTE CURSO 2019-2020			
Valora los pósters y videos atendiendo a la claridad, textos y figuras legibles, diseño, orden lógico, contenidos, etc.			
Póster			Póster
P1	Lisozima Tq10	Andrea y Alejandro	P10
P2	Lisozima Tq14	Marta y Alejandro	Lisozima Tq38
P3	Lisozima Tq17	Sara y Sara	Ignacio y David
P4	Lisozima Tq02	Gloria e Isabel	P11
P5	Lisozima Tq23	Andrea, María y Silvia	Gluc Tq06
P6	Lisozima Tq26	Elisa y Claudia	Rubén y Lorenzo
P7	Lisozima Tq28-31	Jouma, Jaime e Israel	P12
P8	Lisozima Tq29	Natalia y Raquel	Gluc Tq07
P9	Lisozima Tq35	Beatriz y Raquel	Blanca y Noelia
			P13
			Gluc Tq11
			P14
			Gluc Tq13
			P15
			Gluc Tq22
			P16
			Gluc Tq25
			P17
			Gluc Tq40
			Andrea y María
El mejor póster es (indicar sólo 1):			
Vídeo			Valoración 1-10
V21	B GLUCOSIDASA	Tq14: Marta y Alejandro	
V20	Ensayo enzimático y temperatura	Tq20: Cristina y Natalia	
V19	Ensayo enzimático	Tq26: Elisa y Claudia	
V18	Electroforesis Gel Agarosa	Tq02: Gloria e Isabel	
V17	Extracción de DNA	Tq05: Ana, Irene y Michelle	
V16	Extracción de DNA	Tq35: Beatriz y Raquel	
V15	PAGE-SDS	Tq19: Natalia, Noelia y Martín	
V14	PAGE-SDS	Tq23: Andrea, María y Silvia	
V13	PAGE-SDS	Tq32: María y Laura	
V12	Aplicación muestras Cromatogr.	Tq40: Andrea y María	
V11	Aplicación muestras Cromatogr.	Tq25: Natalia y Lucía	
V10	Aplicación muestras Cromatogr.	Tq06: Lorenzo y Rubén	
V9	Aplicación muestras Cromatogr.	Tq01: Anne, Natalia y Álvaro	
V8	Montaje Columna Sephadex	Tq13: Ariadna, Nerea y Fiona	
V7	Montaje Columna Sephadex	Tq07: Blanca y Noelia	
V6	Montaje Columna Sephadex	Tq38: David e Ignacio	
V5	Precipitación Sulfato Amónico	Tq17: Sara y Sara	
V4	Precipitación Sulfato Amónico	Tq28-31: Jouma, Jaime e Israel	
V3	Dialisis	Tq29: Raquel y Natalia	
V2	Espectrofotómetro	Tq22: Ángela y María	
V1	pHmetro	Tq 11: Esperanza, Diego y Haisea	
Comentarios y sugerencias de mejora:			
ASIGNATURA			
ACTIVIDADES COMPLEMENTARIAS			

PURIFICATION OF THE HEN EGG-WHITE LYSOZYME

Natalia Herrada Rodríguez, Rafael García Álvarez

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Complutense University of Madrid (UCM),

Spain, 2018

1. INTRODUCTION

Lysozyme (EC: 3.2.1.17) catalyzes the hydrolysis of β -D-glucosidic bonds between N-acetylmuramic and N-acetylglucosamine of peptidoglycan, a component of gram-positive and gram-negative bacterial cell walls (1). It is found in human secretions as well as in bird egg-whites and its industrial application makes it an enzyme of interest. In this case, the hen egg -white lysozyme (pEWL) is a basic globular, single polypeptide chain protein with a molecular weight between 14-20 kDa is purified following a purification method based on some of its main properties (2). The objective is to compare the efficiency of the method used, as well as to suggest some improvements.

3. RESULTS

2.1. Lysozyme purification 3 steps.

3.1. **Adjusted total absorbance**, done with a spectrophotometer with collared after the acid treatment.

3.2. **Activity** of the hen egg white lysozyme was determined by measuring the absorbance of activity coinciding with the expected value of 0.0025 at 440 nm (3). The absorbance of the sample was determined from 21 to 26 folded E1. In 440 nm (Figure 1B) the lysozyme shows after the two measures of absorbance, fractions 26 and 27 showed E1.

Figure 1. Absorbance spectrum (A) and activity (B) of hen-egg-white lysozyme (E1) and non-synthetic analog (E22L3) and molecular exclusion chromatography (B).

3.3. **Enzymatic activity** of E1, E22L3. 3.4. **Isodent concentration** of E1, E22L3. 3. **Calculated using Figure 2**, the values of BSA, A_{440} and A_{210} of E1, E22L3 are shown in tables 1 and 2.

2.1.2. Initial concentration

- Incubate 5 min at 60°C.
- Keep in ice-water bath for 5 min.
- Centrifuge 5 min., 4000 rpm.

11/00/2019

KINETIC CHARACTERIZATION OF β -GLUCOSIDASE FROM SWEET ALMOND

Esperanza Becerra, Diego Cabrera and Haisa Aguado

Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Complutense University of Madrid

1. ABSTRACT

We kinetically characterized β -glucosidase from sweet almonds using as substrates p-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside (pNPG), according to the Michaelis-Menten model. The kinetic parameters of the enzyme were determined from the Lineweaver-Burk plots. The enzyme was purified from sweet almonds by using a series of chromatographic steps: ion exchange, size exclusion, and reversed-phase. The purified enzyme was characterized by using a series of kinetic assays. The enzyme was purified from sweet almonds by using a series of chromatographic steps: ion exchange, size exclusion, and reversed-phase. The purified enzyme was characterized by using a series of kinetic assays.

2. MATERIALS AND METHODS

FLUKA trading houses supplied β -glucosidase from sweet almond 1710 mM, p-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside (pNPG) 50 mM, used as substrates, glucose 2 M and β -glucosidase 20 mM used as inhibitors and p-nitrophenol (pNP) 25 mM as product.

We added 50 μ L of pNPG from 0.2 mM to 13 mM and 100 mM citrate buffer pH 5.0 into an assay tube. The assay was incubated during 10 min at 40°C. The reaction was stopped by adding 15 mL of NaOH 0.2 M and after the assay, tubes into a beaker fixed with ice. The release of pNP determined the activity of the enzyme and it was estimated by means of absorbance at 410 nm. Kinetic and inhibition assays were performed at 40°C and temperature assays were performed at 6 different temperatures (20°C, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C and 70°C).

3.2. KINETIC PARAMETERS

Figure 1. Michaelis-Menten plot (Lineweaver-Burk plot) of β -glucosidase from sweet almond. The plot shows the relationship between the reciprocal of the initial velocity ($1/v_0$) and the reciprocal of the substrate concentration ($1/[S]$). The data points are fitted with a straight line, indicating Michaelis-Menten kinetics. The x-axis is labeled $1/[S]$ (mM⁻¹) and the y-axis is labeled $1/v_0$ (min² mM⁻¹).

Figure 2: Purification of the ynfK gene product.

Flowchart of Purification:

- Step 1:** Cell lysis with 1 M phosphate buffer, 10 mM Tris-HCl, 10 mM EDTA, 10 mM β -mercaptoethanol, 10 mM DTT, 10 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 10 mM Na₂CO₃, 10 mM NaHCO₃, 10 mM Na₂SO₄, 10 mM Na₂PO₄, 10 mM Na₂SiO₃, 10 mM Na₂VO₃, 10 mM Na₂VO₄, 10 mM Na₂VO₅, 10 mM Na₂VO₆, 10 mM Na₂VO₇, 10 mM Na₂VO₈, 10 mM Na₂VO₉, 10 mM Na₂VO₁₀, 10 mM Na₂VO₁₁, 10 mM Na₂VO₁₂, 10 mM Na₂VO₁₃, 10 mM Na₂VO₁₄, 10 mM Na₂VO₁₅, 10 mM Na₂VO₁₆, 10 mM Na₂VO₁₇, 10 mM Na₂VO₁₈, 10 mM Na₂VO₁₉, 10 mM Na₂VO₂₀, 10 mM Na₂VO₂₁, 10 mM Na₂VO₂₂, 10 mM Na₂VO₂₃, 10 mM Na₂VO₂₄, 10 mM Na₂VO₂₅, 10 mM Na₂VO₂₆, 10 mM Na₂VO₂₇, 10 mM Na₂VO₂₈, 10 mM Na₂VO₂₉, 10 mM Na₂VO₃₀, 10 mM Na₂VO₃₁, 10 mM Na₂VO₃₂, 10 mM Na₂VO₃₃, 10 mM Na₂VO₃₄, 10 mM Na₂VO₃₅, 10 mM Na₂VO₃₆, 10 mM Na₂VO₃₇, 10 mM Na₂VO₃₈, 10 mM Na₂VO₃₉, 10 mM Na₂VO₄₀, 10 mM Na₂VO₄₁, 10 mM Na₂VO₄₂, 10 mM Na₂VO₄₃, 10 mM Na₂VO₄₄, 10 mM Na₂VO₄₅, 10 mM Na₂VO₄₆, 10 mM Na₂VO₄₇, 10 mM Na₂VO₄₈, 10 mM Na₂VO₄₉, 10 mM Na₂VO₅₀, 10 mM Na₂VO₅₁, 10 mM Na₂VO₅₂, 10 mM Na₂VO₅₃, 10 mM Na₂VO₅₄, 10 mM Na₂VO₅₅, 10 mM Na₂VO₅₆, 10 mM Na₂VO₅₇, 10 mM Na₂VO₅₈, 10 mM Na₂VO₅₉, 10 mM Na₂VO₆₀, 10 mM Na₂VO₆₁, 10 mM Na₂VO₆₂, 10 mM Na₂VO₆₃, 10 mM Na₂VO₆₄, 10 mM Na₂VO₆₅, 10 mM Na₂VO₆₆, 10 mM Na₂VO₆₇, 10 mM Na₂VO₆₈, 10 mM Na₂VO₆₉, 10 mM Na₂VO₇₀, 10 mM Na₂VO₇₁, 10 mM Na₂VO₇₂, 10 mM Na₂VO₇₃, 10 mM Na₂VO₇₄, 10 mM Na₂VO₇₅, 10 mM Na₂VO₇₆, 10 mM Na₂VO₇₇, 10 mM Na₂VO₇₈, 10 mM Na₂VO₇₉, 10 mM Na₂VO₈₀, 10 mM Na₂VO₈₁, 10 mM Na₂VO₈₂, 10 mM Na₂VO₈₃, 10 mM Na₂VO₈₄, 10 mM Na₂VO₈₅, 10 mM Na₂VO₈₆, 10 mM Na₂VO₈₇, 10 mM Na₂VO₈₈, 10 mM Na₂VO₈₉, 10 mM Na₂VO₉₀, 10 mM Na₂VO₉₁, 10 mM Na₂VO₉₂, 10 mM Na₂VO₉₃, 10 mM Na₂VO₉₄, 10 mM Na₂VO₉₅, 10 mM Na₂VO₉₆, 10 mM Na₂VO₉₇, 10 mM Na₂VO₉₈, 10 mM Na₂VO₉₉, 10 mM Na₂VO₁₀₀, 10 mM Na₂VO₁₀₁, 10 mM Na₂VO₁₀₂, 10 mM Na₂VO₁₀₃, 10 mM Na₂VO₁₀₄, 10 mM Na₂VO₁₀₅, 10 mM Na₂VO₁₀₆, 10 mM Na₂VO₁₀₇, 10 mM Na₂VO₁₀₈, 10 mM Na₂VO₁₀₉, 10 mM Na₂VO₁₁₀, 10 mM Na₂VO₁₁₁, 10 mM Na₂VO₁₁₂, 10 mM Na₂VO₁₁₃, 10 mM Na₂VO₁₁₄, 10 mM Na₂VO₁₁₅, 10 mM Na₂VO₁₁₆, 10 mM Na₂VO₁₁₇, 10 mM Na₂VO₁₁₈, 10 mM Na₂VO₁₁₉, 10 mM Na₂VO₁₂₀, 10 mM Na₂VO₁₂₁, 10 mM Na₂VO₁₂₂, 10 mM Na₂VO₁₂₃, 10 mM Na₂VO₁₂₄, 10 mM Na₂VO₁₂₅, 10 mM Na₂VO₁₂₆, 10 mM Na₂VO₁₂₇, 10 mM Na₂VO₁₂₈, 10 mM Na₂VO₁₂₉, 10 mM Na₂VO₁₃₀, 10 mM Na₂VO₁₃₁, 10 mM Na₂VO₁₃₂, 10 mM Na₂VO₁₃₃, 10 mM Na₂VO₁₃₄, 10 mM Na₂VO₁₃₅, 10 mM Na₂VO₁₃₆, 10 mM Na₂VO₁₃₇, 10 mM Na₂VO₁₃₈, 10 mM Na₂VO₁₃₉, 10 mM Na₂VO₁₄₀, 10 mM Na₂VO₁₄₁, 10 mM Na₂VO₁₄₂, 10 mM Na₂VO₁₄₃, 10 mM Na₂VO₁₄₄, 10 mM Na₂VO₁₄₅, 10 mM Na₂VO₁₄₆, 10 mM Na₂VO₁₄₇, 10 mM Na₂VO₁₄₈, 10 mM Na₂VO₁₄₉, 10 mM Na₂VO₁₅₀, 10 mM Na₂VO₁₅₁, 10 mM Na₂VO₁₅₂, 10 mM Na₂VO₁₅₃, 10 mM Na₂VO₁₅₄, 10 mM Na₂VO₁₅₅, 10 mM Na₂VO₁₅₆, 10 mM Na₂VO₁₅₇, 10 mM Na₂VO₁₅₈, 10 mM Na₂VO₁₅₉, 10 mM Na₂VO₁₆₀, 10 mM Na₂VO₁₆₁, 10 mM Na₂VO₁₆₂, 10 mM Na₂VO₁₆₃, 10 mM Na₂VO₁₆₄, 10 mM Na₂VO₁₆₅, 10 mM Na₂VO₁₆₆, 10 mM Na₂VO₁₆₇, 10 mM Na₂VO₁₆₈, 10 mM Na₂VO₁₆₉, 10 mM Na₂VO₁₇₀, 10 mM Na₂VO₁₇₁, 10 mM Na₂VO₁₇₂, 10 mM Na₂VO₁₇₃, 10 mM Na₂VO₁₇₄, 10 mM Na₂VO₁₇₅, 10 mM Na₂VO₁₇₆, 10 mM Na₂VO₁₇₇, 10 mM Na₂VO₁₇₈, 10 mM Na₂VO₁₇₉

3.3. EFFECT OF TEMPERATURE

Figure 2. a) Lineweaver-Burk plot for glucose. b) Lineweaver-Burk plot for β -D-glucopyranoside. c) Lineweaver-Burk plot for sucrose. d) Dixon plot for glucose. e) Dixon plot for β -D-glucopyranoside. f) Dixon plot for sucrose. g) Lineweaver-Burk plot for glucose with temperature. h) Lineweaver-Burk plot for β -D-glucopyranoside with temperature. i) Lineweaver-Burk plot for sucrose with temperature. j) Lineweaver-Burk plot for glucose with pH. k) Lineweaver-Burk plot for β -D-glucopyranoside with pH. l) Lineweaver-Burk plot for sucrose with pH. m) Lineweaver-Burk plot for glucose with temperature and pH. n) Lineweaver-Burk plot for β -D-glucopyranoside with temperature and pH. o) Lineweaver-Burk plot for sucrose with temperature and pH.

3.4. INHIBITION ASSAYS

Figure 2. a) Lineweaver-Burk plot for glucose. b) Lineweaver-Burk plot for β -D-glucopyranoside. c) Lineweaver-Burk plot for sucrose. d) Dixon plot for glucose. e) Dixon plot for β -D-glucopyranoside. f) Dixon plot for sucrose. g) Lineweaver-Burk plot for glucose with temperature. h) Lineweaver-Burk plot for β -D-glucopyranoside with temperature. i) Lineweaver-Burk plot for sucrose with temperature. j) Lineweaver-Burk plot for glucose with pH. k) Lineweaver-Burk plot for β -D-glucopyranoside with pH. l) Lineweaver-Burk plot for sucrose with pH. m) Lineweaver-Burk plot for glucose with temperature and pH. n) Lineweaver-Burk plot for β -D-glucopyranoside with temperature and pH. o) Lineweaver-Burk plot for sucrose with temperature and pH.

4. CONCLUSIONS

The kinetic parameters of the β -glucosidase from sweet almonds were V_{max} 7,701 μ mol/min, K_m 1,966 mM and k_{cat}/K_m 3900 min^{-1} . This enzyme can be considered as mesophilic because temperature studies proved that its optimum temperature is around 45°C. The inhibition assays showed that both of inhibitors (glucose and β -glucopyranoside) produce competitive inhibition. However, β -glucosidase showed a way better inhibition efficiency than glucose. This is due to its condition as analogue of transition state which presents bigger inhibition than product, ribitol. Because of this result we propose a mono-ordered mechanism. We didn't take account of water as substrate, if we did so, it would be a sequential ordered covalent pre-organizing mechanism [3]. Further studies need to be done to propose a mechanism more accurate. For example, pH studies would provide us of information about the chemical mechanism.

5. REFERENCES

- White, A.; Rose, D. R. (1997). Mechanism of catalysis by retaining beta-glycosyl hydrolases. *Current Opinion in Structural Biology* 7, 646-651.
- Thurn, N. H., Song, J. K. (2013). Recent biotechnological progress in enzymatic synthesis of glycosides. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 40, 1329-1336.
- An-Rum Park, Joo Hye Hong, Jee-In Kim, and Jeong-Jin Glucosidase from the Fungus, *Penicillium hirsutum*, Isolated from Roten Citrus Peel. The Korean Society of Mycology 40 (3), 173-180. DOI 10.5841/KSCM.2012.40.3.173

Diagram 2. Cleavage of E.

Diagram 2. Cleavage of E.